



|              |                                                                                                                                                       |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 高脂肪食摂取マウスにおけるエゼチミブの肝臓の鉄代謝に及ぼす影響                                                                                                                       |
| Author(s)    | 岸野, 好純                                                                                                                                                |
| Citation     | 大阪大学, 2014, 博士論文                                                                                                                                      |
| Version Type |                                                                                                                                                       |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/34264">https://hdl.handle.net/11094/34264</a>                                                                   |
| rights       |                                                                                                                                                       |
| Note         | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

## 〔 題 名 〕

高脂肪食摂取マウスにおけるエゼチミブの肝臓の鉄代謝に及ぼす影響

学位申請者 岸野 好純



非アルコール性脂肪肝及び脂肪肝炎（NAFLD/NASH）では、しばしば肝に鉄の蓄積が認められ、肝の組織障害との関連性が注目されている。一方、肝内の鉄含有量増加によってコレステロール合成亢進や中性脂肪減少が引き起こされることが齧歯類の動物実験で示されていることより、脂質代謝と鉄代謝が相互に作用を及ぼす可能性が示唆される。脂肪酸やコレステロールは小腸で吸収され体内へ流入する。特に小腸上皮細胞でのコレステロール取り込みは、Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) という輸送蛋白が担っている。NPC1L1のコレステロール取り込みを阻害する薬剤であるエゼチミブ(Ezetimibe)は、小腸上皮細胞内でのカイロミクロン合成に必要なコレステロール供給を抑制するため、脂肪酸や中性脂肪の体内への供給にも影響すると考えられている。今回、我々はコレステロール吸収だけでなく肝内脂質代謝にも影響すると考えられているエゼチミブが鉄代謝へ及ぼす影響について検討した。

7週齢雄性C57BL/6マウスを4グループに分け（各グループ6匹）、Cはコントロール食を12週間、CEはCを8週間与えた後、Cにエゼチミブを添加（0.3mg/日）した食餌を4週間、Hは高脂肪食を12週間、HEはHを8週間与えた後、Hにエゼチミブを添加した食餌を4週間摂取させた。そして、これらのマウスより採取した肝を用いて脂質および鉄含有量を分析するとともに、肝および十二指腸における鉄代謝関連遺伝子の変化をreal-time PCRにて調べた。その結果、肝のコレステロール濃度はCよりもCEで減少しており、中性脂肪はHよりもHEで減少していた。肝の鉄濃度はCとCEでは差がなかったが、HEはHよりも高値を示した。肝における鉄代謝関連遺伝子のmRNAでは、鉄の取り込みに関わるtransferrin receptor 1(TfR1)、divalent metal transporter 1(DMT1)、鉄貯蔵を担うFerritinH、FerritinL、十二指腸上皮細胞から血液中への鉄の流入を抑制するHepcidinとその調節因子であるHemojuvelinおよびNeogeninにおいて、CよりCEで増加、HよりHEで増加していた。さらに、FerritinH、Hepcidin、Neogenin、TfR2および肝から血中への鉄の排出を担う Ferroportin1では、CEよりもHEで増加していた。十二指腸における鉄代謝関連遺伝子のmRNAでは、小腸上皮細胞の管腔側に存在するDMT1、FerritinHおよび血管側に存在して鉄を2価から3価へ還元するHephaestinが、CよりCEで有意に高値であった。また、十二指腸上皮細胞から血液中への鉄の取り込みを担うFerroportin1は、CよりCEで増加傾向、HよりHEで増加傾向を示していた。これらの結果より、エゼチミブは肝のコレステロールおよび中性脂肪を減少させたが、コントロール食および高脂肪食の両方において肝への鉄取り込みを亢進させ、高脂肪食では肝の鉄濃度を増加させると考えられた。

次に、鉄過剰の状況下においてエゼチミブが鉄代謝へ及ぼす影響を調べるため、マウスにC、CE、HおよびHEと同様の飼料を6週間与えた後、後半6週間は各飼料にカルボニル鉄（平均 22.4mg/日）を添加したものを摂取させ、それぞれCI、CIE、HIおよびHIEの4群とした。その結果、肝のコレステロール濃度はCIよりもCIEで減少しており、また中性脂肪はHIよりもHIEで減少していた。肝の鉄濃度はCIとCIEでは差はなかったが、HIEはHIよりも高値であった。さらに、CIよりHIで、また、CIEよりHIEで肝の鉄濃度は高値であった。

肝の鉄代謝関連遺伝子のmRNAは、FerritinLおよびHepcidinの発現のみがHIに比べてHIEで増加していたが、鉄過剰でない飼料を与えた際の成績ほど強い変化は認められなかった。しかし、FerritinH、FerritinL、Hepcidin、Tfr2およびFerroportin1の発現は、CIEよりもHIEが有意に増加しており、エゼチミブによって誘発される肝への鉄蓄積は、コントロール食よりも高脂肪食で亢進していると考えられた。十二指腸では、鉄代謝関連遺伝子のmRNA発現には明らかな変化は認められず、経口による過剰な鉄投与は十二指腸でのエゼチミブの影響を減弱させていると考えられた。

以上の結果より、エゼチミブは肝および十二指腸において鉄取り込みに関わるトランスポーターの発現を誘導し、鉄代謝に影響を及ぼしていることが明らかとなった。また、エゼチミブは肝での鉄過剰の有無に関係なく高脂肪食を摂取したマウスにおいて、肝内鉄濃度を増加させることを示した。諸家の報告によると高脂肪食あるいは脂肪肝がエゼチミブの薬物動態や薬理効果に影響を及ぼす可能性が示されている。本研究では、高脂肪食を構成する脂肪酸組成や高脂肪食負荷による脂肪肝形成が、エゼチミブの鉄代謝への作用を修飾し、肝内鉄レベルの増加へ相加的影響を与えている可能性が示唆される。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

| 氏 名 ( 岸 野 好 純 )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |     |         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | (職) | 氏 名     |
| 論文審査担当者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 主査  |         |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 副査  |         |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 副査  |         |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 副査  |         |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 教授  | 岩 谷 良 則 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 教授  | 三 善 英 知 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 教授  | 木 原 進 士 |
| 論文審査の結果の要旨                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |     |         |
| <p>近年の食生活およびライフスタイルの変化は、多くの国々において、メタボリックシンドロームの罹患率を増加させている。非アルコール性脂肪肝疾患(nonalcoholic fatty liver disease ; NAFLD) は、メタボリックシンドロームの肝臓における徴候であり、単純脂肪肝から非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis ; NASH) にわたる広い範囲の肝疾患を含む。NAFLDおよびNASHでは、しばしば肝に鉄の蓄積が認められ、肝組織障害を進展させる要因の一つと考えられている。本研究は、マウスにおいて小腸のコレステロールトランスポーターNiemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) の阻害薬であるエゼチミブ (Ezetimibe) が、肝および十二指腸の鉄代謝関連遺伝子の発現に影響を及ぼし、肝への鉄蓄積を亢進させることを初めて明らかにしたものである。</p> <p>本研究では、エゼチミブが高脂肪食摂取の有無に関わらず、マウスにおいて肝のtransferrin receptor 1 (Tfr1)、transferrin receptor 2 (Tfr2)、divalent metal transporter 1 (DMT1)、Ferritin H/L、Ferroportin1、Hepcidin等の鉄代謝関連遺伝子のmRNA発現を亢進させ、さらに高脂肪食摂取ではより強くそれらの遺伝子群の発現を亢進させることを見出した。また、エゼチミブは十二指腸においてもDMT1やFerritin HのmRNA発現を亢進させた。そして、エゼチミブのみを投与した場合には肝の鉄濃度に影響を及ぼさないが、高脂肪食で飼育したマウスに高脂肪食とエゼチミブを組み合わせると、肝の鉄濃度を増加させることを明らかにした。NAFLDやNASH患者ではしばしば肝に鉄の蓄積が認められることから、本研究ではさらに鉄を過剰摂取させたマウスについてもエゼチミブの鉄代謝への影響を検討した。その結果、肝の鉄濃度は過剰な鉄投与によって既に10倍程度に著増していたにも関わらず、高脂肪食とエゼチミブの組み合わせではさらに肝の鉄濃度を増加させることを見出した。これらの研究結果より、エゼチミブは肝における鉄過剰の有無に関わらず、高脂肪食摂取あるいは高脂肪食による脂肪肝形成の条件下において、肝の鉄濃度を増加させることを明らかにした。</p> <p>コレステロール低下薬として世界90カ国以上で承認されているエゼチミブが、肝の鉄濃度を増加させる可能性があることを示したのは本研究が初めてである。このことは、脂質代謝を変化させる薬剤の臨床研究において、鉄代謝への影響についても配慮する必要があることを示唆する研究成果として注目値する。以上のことから、本研究は博士（保健学）の学位授与に値すると考える。</p> |     |         |